

EFFECTO *IN VITRO* DE FUNGICIDAS SOBRE DIFERENTES ESPECIES DE *ASPERGILLUS*

GENOVEVA GARCÍA-AGUIRRE*
ERNESTO MORENO-MARTÍNEZ*

RESUMEN

Dieciocho fungicidas comerciales fueron probados por medio del bioensayo de los discos de papel en contra de algunas de las especies de *Aspergillus* más comunes en granos y semillas almacenados.

Los fungicidas más eficaces fueron Captafol, Dicloroafluanido, Clorotalonil y Benomyl. Con relación a los hongos, el grupo más resistente al efecto de los fungicidas fue *A. flavus*; las especies más susceptibles fueron *A. chevalieri*, *A. versicolor*, *A. amstelodami*, *A. repens*, *A. tamaritii*, *A. parasiticus* y *A. ochraceus* y las más resistentes, *A. ruber*, *A. sydowi*, *A. oryzae* y *A. flavus*.

ABSTRACT

A group of 18 different fungicides were assayed against some of the most common species of *Aspergillus* found on stored seeds and grains. The most efficient of the fungicides were Captafol, Dichlorofluanide, Chlorothalonil, and Benomyl. Among the fungi the most resistant group was *A. flavus* while the most susceptible species were *A. chevalieri*, *A. versicolor*, *A. amstelodami*, *A. repens*, *A. tamaritii*, *A. parasiticus* and *A. ochraceus* and the most resistant to the fungicide action were, *A. ruber*, *A. sydowi*, *A. oryzae* and *A. flavus*.

INTRODUCCIÓN

Entre los problemas que se presentan en el almacenamiento de las semillas agrícolas, la presencia de hongos es de gran importancia, ya que al invadir a los embriones la capacidad de germinación se ve afectada, llegando en ocasiones a una pérdida total del poder germinativo (Christensen y Kaufmann, 1969; Christensen, 1972).

No siempre resulta posible combatir a los hongos del almacén (*Aspergillus* y *Penicillium*) mediante el manejo de los factores físicos, humedad y temperatura, durante el almacenamiento de las semillas, debido a factores de tipo económico y técnico, por lo que una alternativa en la prevención del daño ocasionado por dichos hongos es el uso de fungicidas. Sin embargo estas sustancias actualmente no son utilizadas con este fin, ya que no han sido desarrollados fungicidas con este propósito específico. Algunos investigadores han probado diversos fungicidas en el combate de los mencionados hongos sin tener resultados del todo satisfactorios (Milner *et al.*, 1947; Moore y Olien, 1952; Olien y Moore, 1954). Ha

* Departamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM, Apdo. Postal 70-233, 04510. México, D. F.

sido señalado que tales fungicidas no han combatido a los hongos del almacén debido a que su efectividad en el mismo está limitado por la baja humedad que en ese medio prevalece (Christensen y Kaufmann, 1969).

Teniendo en cuenta la necesidad de contar con fungicidas que sean efectivos en el almacén se considera importante su búsqueda para el combate de los hongos que ahí se desarrollan.

Además el encontrar fungicidas efectivos, aun cuando no hayan sido desarrollados con este propósito, puede estimular el desarrollo de fungicidas específicos capaces de proteger la viabilidad de las semillas cuando éstas son almacenadas con contenidos de humedad superiores al 14%, situación que se presenta en las zonas cálido-húmedas, en donde la preservación de la viabilidad de las semillas representa un problema serio.

En este trabajo fueron probadas "in vitro" 18 sustancias químicas, que normalmente son usadas en la agricultura como fungicidas en el combate de enfermedades de campo, con el objeto de determinar el efecto inhibitorio de algunos de estos fungicidas sobre las especies de *Aspergillus* más comunes en granos y semillas almacenadas, lo que permitirá seleccionar los más efectivos para ser probados en semillas almacenadas bajo condiciones favorables para el desarrollo de los hongos de almacén.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron probados 18 fungicidas: Tiram, Propineb, Benomyl, Brestan, Captan, Clorotalonil, Captafol, Anilazine, Diclorofluanido, Edifenops, Kasumin, Kocide 101, Maneb, Morestan, Nabam, Tiabendazole, Tuzet, Zineb. De los fungicidas Captan y Clorotalonil fueron utilizadas más de una muestra, provenientes de diferentes fuentes.

Las especies de hongos contra las que fueron probados los fungicidas pertenecen a algunos de los grupos de *Aspergillus* más comunes en el deterioro de granos y semillas almacenados. Del grupo *A. glaucus*, las especies *A. amstelodami* (Mangin) Thom y Church, *A. chevalieri* (Mangin) Thom y Church, *A. repens* De Bary y *A. ruber* (Konig, Spieckermann y Bremer) Thom y Church, del grupo *A. versicolor*; las especies *A. versicolor* (Wuill) Tiraboschi y *A. sydowi* (Bain y Sart.) Thom y Church; del grupo *A. ochraceus*, la especie *A. ochraceus* Wilhelm, y del grupo *A. flavus* las especies *A. flavus* Link, *A. oryzae* (Ahlb.) Colm, *A. parasiticus* Speare y *A. tamarii* Kita.

El bioensayo seguido fue el de los discos de papel descrito por Sharvelle (1969), usando una dosis de fungicida de 50 ppm.; el número de conidios fue de 50,000 por mililitro.

Los medios de cultivo usados fueron Agar de Harrold (M40Y) para las especies del grupo *A. glaucus* y Extracto de malta agar (EMA) para las de los grupos *A. versicolor*, *A. ochraceus* y *A. flavus*; la temperatura de incubación fue de 25 C durante 15 días (Raper y Fennel, 1965). Para medir la efectividad de los fungicidas usados, fue establecida una escala del 0 (no crecimiento) al 4 (crecimiento y esporulación abundantes), las lecturas de crecimiento fueron hechas dos veces, la primera a los 6 días y la segunda a los 15 días.

La prueba fue montada como un experimento anidado con el siguiente modelo lineal $Y_{ijk} = \mu + F_i + G_j + E_{k(j)} + GF_{ij} + FE_{ik(j)} + E_{ijk}$; con las especies anidadas en los grupos. Debido a que la medición del crecimiento de los hongos fue hecha con una escala subjetiva, la validez del análisis de varianza fue confirmada con la prueba de estadísticas no paramétricas de Kruskal Wallis (Steel y Torrie, 1960).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prueba de Kruskal Wallis fue positiva y el análisis de varianza altamente significativo tanto para efecto de Fungicidas (F) y comportamiento de Especie (E) y Grupos (G) como para las interacciones Fungicidas por Especie (FxE) y Fungicida por Grupo (FxG).

Debido a que en el análisis de varianza la prueba de F fue altamente significativa, fueron hechas los contrastes de medias según el método de diferencia significativa mínima (DSM) (Steel and Torrie, 1960). Todas las inferencias están hechas con una probabilidad $\alpha = .01$.

De los fungicidas usados, Captafol A, B y C fueron de los más eficientes, sin embargo, no existe diferencia entre éstos y Diclorofluanido, Clorotalonil y Benomyl (Tabla 1), en un segundo grupo están Diclorofluanido, Clorotalonil Benomyl y Captan A, en tercer lugar Clorotalonil, Benomyl, Captan A y B y Tiabendazol, el resto de los fungicidas no fueron eficientes con la dosificación usada, los miembros del tercer grupo antes mencionados: deben ser probados en dosis mayores especialmente Tiabendazole ya que éste está considerado como no tóxico y podría ser usado en granos para consumo animal.

TABLA 1
CONTRASTE DE MEDIAS ENTRE FUNGICIDAS

Captafol (A)	a								
„ (B)	a								
„ (C)	a								
Diclorofluanido	a	b							
Clorotalonil	a	b	c						
Benomyl	a	b	c	d					
Captan (A)		b	c	d					
„ (B)			c	d	e				
Tiabendazole			c	d	e	f			
Anilazine				d	e	f			
Brestan					e	f	g		
Tiram					e	f	g		
Maneb						f	g	h	
Propineb						f	g	h	
Tuzet						f	g	h	
Morestan						f	g	h	
Kasumin						f	g	h	
Kocide 101							g	h	
Edifenops							g	h	
Nabam								h	
Zineb								h	
Testigo								h	

Todas las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí (DSM. $P < 0.01$)

Considerando a los hongos dentro de sus grupos, no se observó diferencia entre *A. glaucus*, *A. versicolor* y *A. ochraceus* en su comportamiento ante los fungicidas, siendo el más resistente *A. flavus* (Tabla 2).

TABLA 2
CONTRASTE DE MEDIAS ENTRE GRUPOS

<i>A. glaucus</i>	a	
<i>A. versicolor</i>	a	
<i>A. ochraceus</i>	a	
<i>A. flavus</i>		b

Todas las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí (DSM. $P < 0.01$)

Las especies más susceptibles (Tabla 3) fueron *A. chevalieri*, *A. versicolor*, *A. amstelodami*, *A. repens*, *A. tamaritii*, *A. parasiticus* y *A. ochraceus* no existiendo diferencia entre ellos, por otro lado *A. ruber*, miembro del grupo *A. glaucus*, se encuentra entre las especies más resistentes, es un hongo que crece en granos con contenidos de humedad bajos, por lo que esta especie, que además es muy frecuente, debe ser estudiada con mayor detalle.

TABLA 3
CONTRASTE DE MEDIAS ENTRE ESPECIES

<i>A. chevalieri</i>	a		
<i>A. versicolor</i>	a	b	
<i>A. amstelodami</i>	a	b	
<i>A. repens</i>	a	b	
<i>A. tamaritii</i>	a	b	
<i>A. parasiticus</i>	a	b	
<i>A. ochraceus</i>	a	b	
<i>A. ruber</i>		b	c
<i>A. sydowi</i>		b	c
<i>A. oryzae</i>		b	c
<i>A. flavus</i>			c

Todas las medias seguidas por la misma letra son iguales entre sí (DSM. $P < 0.01$)

De acuerdo con los resultados anteriores fue determinado que algunos de los fungicidas probados Captafol A, B y C, Diclorofluanido, Clorotalonil, Benomyl y Captan A mostraron efectividad contra las especies más comunes de hongos de almacén y teniendo en cuenta que esa efectividad puede deberse a la alta humedad presente en el medio de cultivo (Christensen y Kaufmann, 1969); se deberán efectuar pruebas con estos fungicidas, en semillas almacenadas con humedades que normalmente se encuentran en los almacenes; se deberá obtener información sobre las dosis mínimas efectivas en semillas bajo diferentes condiciones de almacenamiento con el objeto de definir los límites de uso de estos productos. La

información obtenida con relación a la eficiencia de los fungicidas para cada especie, ayudará a definir las dosis para combatir en forma más efectiva a las diferentes especies de hongos de almacén.

LITERATURA CITADA

- CHRISTENSEN, C. M., 1972. Microflora and seed deterioration. In: Roberts, E. H. (Ed.) *Viability of Seed*. Chapman and Hall. Londres, 59-93.
- y K. H. KAUFMANN, 1969. *Grain storage: The role of fungi in quality loss*. University of Minnesota Press. Mineápolis, 153 pp.
- y L. C. LÓPEZ, 1963. Pathology of stored seeds. *Proc. Int. Seed Testing Assoc.* 28: 701-711.
- MILNER, M., C. M. CHISTENSEN y W. F. GREDDER, 1947. Grain storage studies. 7: Influence of certain mold inhibitors on respiration of moist wheat. *Cereal Chemistry* 24: 507-517.
- MOORE, M. B. y C. R. OLIEN, 1952. Mercury bichloride solution disinfectant for cereal seeds. *Phytopathol.* 42: 471.
- OLIE, C. R. y M. B. MOORE, 1954. Certain mercurial seed treatments do not kill fungi on seed wheat prior to planting. *Phytopathol.* 44: 500.
- SHARVELLE, E. G., 1969. *Chemical control of plant diseases*. University Publishing College Station Texas, 261-264.
- RAPER, K. B. y D. I. FENNEL, 1965. *The genus Aspergillus*. Williams and Wilkins. Baltimore, 686 p.
- STEEL, R. D. y J. H. TORRIE, 1960. *Principles and procedures of statistics*. 2nd Ed. McGraw-Hill. Nueva York, 633 p.
- THOMPSON, W. T., 1975. *Agricultural Chemicals Book IV. Fungicides*. Thompson Publications. Indianápolis, 156 p.